

EMPREGO DA METODOLOGIA DE FUSÃO DE PROTOPLASTOS UTILIZANDO A TÉCNICA DO DOADOR MORTO PARA A PRODUÇÃO DE CELULASES EM *Penicillium echinulatum*

Bárbara Lizandra Perini de Souza (BIC-UCS), Aldo José Pinheiro Dillon (orientador) - Divisão de Processos Biotecnológicos/INBI/UCS - blpsouza@ucs.br

Neste trabalho, utilizou-se a fusão de protoplastos para combinar genótipos de linhagens celulolíticas de *Penicillium echinulatum*, usando a técnica do doador morto. As linhagens tiveram seu micélio tratado com o produto comercial Glucanex, para degradação da parede celular. Os protoplastos da linhagem 9A02S1B9 (resistente a benomil) foram inativados a 70°C antes da fusão, induzida por PEG4000+Ca⁺⁺, com protoplastos da linhagem 9A02D1 (sensível a benomil). A seleção dos heterocários realizou-se em meio contendo benomil (12µg/mL) e celulose intumescida. Obteve-se seis prováveis heterocários que formaram setores, não sendo verificado segregação para resistência a benomil. Destes foram selecionados 6 clones (PFSD I; I-24; J; E; O; V), que mostraram variação na precocidade de formação de halo (relação halo/colônia), estabilidade e variabilidade na resistência a benomil. Em cultivo submerso (CS), a secreção de FPAases, beta-glicosidases e perfil de pH apresentou variabilidade entre as linhagens. Com relação a FPAases, as fusionantes apresentaram maior produtividade, mostrando valores superiores já no 4º dia de cultivo. Um dos fusionantes denominado I-24 apresentou maior estabilidade, mantendo a atividade de FPAases ainda no 8º dia de cultivo, enquanto as demais linhagens apresentaram diminuições. Para beta-glicosidases os valores foram significativamente menores em relação aos parentais. Os valores de pH sugerem que existe uma saída mais rápida da fase ácida nos fusionantes em relação aos parentais. Em cultivo semi-sólido (CSS), para FPAases, não observou-se diferença entre os valores obtidos nestas linhagens, entretanto para beta-glicosidases os fusionantes J, E, O e V foram superiores no 3º dia de cultivo em relação aos parentais D1 e S1B9. Podemos concluir que obteve-se heterocários por fusão de protoplastos e que estes produziram colônias com valores alterados de secreção de celulases em relação aos parentais.

Palavras-chave: fusão de protoplastos, celulases, *Penicillium*

Apoio: UCS